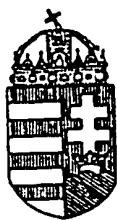


(19) Országkód:

HU



MAGYAR  
KÖZTÁRSASÁG  
ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL

# SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

211 586 A9

(21) A kérelem ügyszáma: P/P 00464

(22) A bejelentés napja: 1995. 06. 27.

(30) Elsőbbségi adatok:

332 302/91 1991. 01. 31. JP

Az alapul szolgáló szabadalom  
száma: 239 381 országkódja: NZ  
Az alapul szolgáló külföldi szabadalomnak  
az oltalmi idő számítása szempontjából  
figyelembe veendő kezdő napja: 1991. 08. 13.  
Az oltalom e naptól számított 20 évig tartható fenn.

A hazai oltalom kezdete: 1994. 07. 01.

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>

A 61 K 9/64

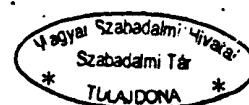
A 61 K 9/66

A 61 K 9/50

A 61 K 37/02

A 61 K 47/30

A 61 K 47/40



(72) Feltalálók:

Okada, Hiroaki, Osaka (JP)

Ogawa, Yasuaki, Kyoto (JP)

Inoue, Yayoi, Kyoto (JP)

(73) Szabadalmas:

Takeda Chemical Industries Ltd., Osaka (JP)

(74) Képviselő:

DANUBIA Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.,  
Budapest

(54)

## Nyújtott hatóanyag-leadású mikrokapszulák

Az átmeneti oltalom az 1–11. és 24. igénypontokra vonatkozik.

A találmány olyan mikrokapszulákra vonatkozik, amelyek fisiológiaileg aktív peptidek elnyújtott leadására szolgálnak.

Az elnyújtott időtartamon át beadandó gyógyszerhez sok különböző adagolási formát javasoltak már. Ezek közül az EP-A-0 052 510 számú közrebocsátási irat mikrokapszulák előállítását ismerteti fáziselkülönítési eljárással valamely koacerváló szert, mint például ásványolajat vagy növényi olajat alkalmazva. Az US-4 652 441 és az US-4 711 782 számú leírásokban és az EP-A-0 190 833 számú közrebocsátási iratban eljárássokat írnak le mikrokapszulák előállítására „vízben száritás” segítségével. Ezen eljárások szerint a gyógyszereket hatékonyan be lehet építeni mikrokapszulákba úgy, hogy olyan kívánt mikrokapszulákat kapnak, amelyeknek kezdeti hatóanyagkibocsátása csekéllyel.

Abban az esetben, ha egy gyógyszert mikrokapszulák formájában adagolunk, a mikrokapszulákkal szemben különböző követelmények állnak fenn, amelyek az elő test működésével kapcsolatos kölcsönhatásoktól nagy mértékben függnek. Mivel gyógyszerekrol van szó, a legkülönfélébb követelményeket a lehető legjobban kielégítő mikrokapszulára van szükség.

Sok közlemény számol be vízoldható gyógyszereket tartalmazó mikrokapszulákról, amelyekhez biológiaileg lebontható polimereket alkalmaznak. Egy vízoldható gyógyszer alkalmazása esetén azonban – különösen valamely viszonylag nagy molekulatömegű, fisiológiaileg aktív peptid esetén – az ilyen módon polimerbe kapszulázott gyógyszer diffúziója csekély, ezért a gyógyszer a kezdeti stádiumban gyakorlatilag nem bocsátódik ki mindenkor, míg a polimer lebomlása vagy telítődése nem következik be. Hátrányos hatás az is, hogy az előállítástól függően elkerülhetetlen a robbanásszerű kibocsátás a kezdeti stádiumban. Ennek megfelelően gyakoriak a gyakorlati nehézségek a gyógyszerekkel való alkalmazásban. Különösen fontos követelmény a gyógyászati kompozíciók elnyújtott hatóanyagleadása, illetve a gyógyszerek nagy pontosságú állandó hatóanyagleadása, eddig azonban nem voltak ismeretek olyan mikrokapszulák, amelyek ezeket a követelményeket megfelelően kielégítették volna.

A fenti körülmenyekre való tekintettel kísérleteket folytattunk abból a célból, hogy fisiológiaileg aktív peptid elnyújtott kibocsátására alkalmas gyógyászati kompozíciót fejlesszünk ki. Kísérleteink során felismertük, hogy megfelelően kiválasztott, behatárolt molekulatömegű polipeptidet vagy polipeptid-glikolsav keveréket (100/0 és 80/20 között) alkalmazva olyan mikrokapszulák állíthatók elő, amelyek kiváló, folyamatos kibocsátóképességgel bírnak hosszú időn át. További, a felismerésre alapuló kutatással dolgoztuk ki találmányunkat.

Közelebbről a találmány tárgya olyan mikrokapszulák biztosítása, amelyek fisiológiaileg aktív polipeptidek zérórendű kibocsátására alkalmasak legalább két hónapon át, és amelyeket úgy állítunk elő, hogy víz-az-olajban emulziót készítünk, ahol a belső vizes fázis mintegy 20–70 tömeg% polipeptidet tartalmaz. míg az olajos fázis olyan kopolimert vagy homopoly-

mert – előnyösen tejsav/glikolsav polimet – tartalmaz, amelynek átlagos molekulatömege 7000 és 30 000 között van, és amelynek tejsav/glikolsav anyaghányada 80/20 és 100/0 között van, majd az emulíttet viz-az-olajban emulziót mikrokapszulázásnak vejük alá.

A találmány értelmében olyan mikrokapszulát biztosítunk, amely fisiológiaileg aktív polipeptidek zérórendű kibocsátására alkalmas legalább két hónapon át.

A találmány szerinti eljárásban alkalmazható, fisiológiaileg aktív peptidek közé értjük mindeneket a peptideket, amelyek két vagy kettőnél több aminosavból állnak és molekulatömegük mintegy 200 és mintegy 100 000 között van.

Ilyen peptidek például a luteinizáló hormont kibocsátó hormon (LH-RH) és analógiái; pl. az LH-RH-szerű aktivitású vegyületek [v. ö. US-3 853 837; US-4 008 209; US-3 972 859; US-4 234 571 és GB-1 423 083 számú szabadalmi leírások; Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 78, 6509–6512 (1981)] és az LH-RH antagonisták (v. ö. US-4 086 219; US-4 124 577; US-4 253 997 és US-4 317 815 számú szabadalmi leírások). Megemlíthetjük továbbá a prolaktint, az adrenokortikotróp hormont (ACTH), a melanocita-stimuláló hormont (MSH), a tireotropint kibocsátó hormont (TRH), valamint ezek sói és származékeit (v. ö. US-3 959 247 számú szabadalmi leírás) a tiroid-stimuláló hormont (FSH), a follikulus-stimuláló hormont (FSH), a vazopressint, a vazopressin-származékokat (dezmopressin stb.), az oxitocint, kalcitonint, paratiroid hormont (PTH) és származékeit, a glukagont, a gasztrint, a vazoaktív intesztinális peptidet (VIP), a lipokortint, a vazokortint, pitvari natriuretikus peptidet (ANP), az endotelint, a szekretint, a pankreozint, a kolecisztokinint, az angiotenzint, a humán méhlepény laktogént, a humán korion gonadotropint (HCG), az enkefalin, az enkefalin származékokat (v. ö. US-4 382 923 számú szabadalmi leírás; EP-A-31 567 számú közrebocsátási irat), az endorfint, a kiotorfint, az inzulint, a szomatostatint, a szomatotatin származékokat (v. ö. US-4 087 390; US-4 093 574; US-4 100 117 és US-4 253 998 számú szabadalmi leírások) a növekedési hormonokat, valamint a különböző sejtburjánzs-differenciáló faktorokat [pl. az inzulin-szerű növekedési faktort (IGF), az epidermális növekedési faktor (EGF), a fibroblaszi növekedési faktort (FGF), a vérlemezke-eredetű növekedési faktort (PDGF), az ideg-növekedési faktort (NGF), a májsejti növekedési faktort (HGF), a transzformált növekedési faktort (TGF- $\beta$ ), a csont morfogenetikus faktort (BMF), a vaszkularizációs faktort, a vaszkularizációt gátító faktort, a fibronektint, a laminint stb.], az interferonokat ( $\alpha$ -,  $\beta$ - és  $\gamma$ -típus), az interleukinokat (I., II., III., IV., V., VI. és VII.) a tuftszint, a timopoietint, a timozint, a timostimulint, a tímusz humorális faktort (THF), a szérum tímusz faktort (FTS) és származékeit (v. ö. US-4 229 438 számú szabadalmi leírás) és más tímusz faktorokat [v. ö. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 1162–1166 (1984)], a tumor nekrózis faktort (TNF), a telcstimuláló faktort (CSF), a motilint, az erit-

ropoietint (EPO), a dinorfint, a bombezint, a neurotensint, a ceruleint, a bradikinint, az urokinázit, a prourokinázit, a szöveti plazminogén aktivátorit (t-PA) és ezek származékait [v. ö. „Therapeutic Peptides and Proteins”, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 69–74 (1989)], a szireptokinázt, az aszparaginázt, a kallikreint, a P-vegyületet, a VIII. és IX. véralkadási faktorokat, a lizozim-kloridot, a polimixin B-t, a koliszint, a gramicidint, a bacitracint stb.

Közelebbről egy olyan mikrokapszula, amely fiziológiailag aktív polipeptidként egy LH-RH analógöt tartalmaz, amely vízoldható és molekulatömege 1000 vagy annál több [pl. a TAP-144, amely (pir) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-ProNHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> képlettel fejezhető ki, vagy egy olyan LH-RH antagonista, amely a (pir) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly NHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> képlettel fejezhető ki], folyamatos, előnyösen hosszan elnyújtott hatóanyagleadást tesz lehetővé.

Ezen fisiológiaileg aktív peptidek alkalmazott mennyisége nagy mértékben függ többek között a peptidtől, az elérni kívánt farmakológiai hatástól és a hatás időtartamától; ez a mennyiség 0,01 mg és 5 g közti tartományban, előnyösen 0,1 mg és 2 g közti tartományban van mikrokapszula-adagonként. A mikrokapszulákban levő koncentráció függ a gyógyszer fizikokémiai tulajdonságaitól, és mintegy 0,01 tömeg% és mintegy 50 tömeg% közti tartományban, előnyösen a 0,1 tömeg% és 30 tömeg% közti tartományban van.

A polipeptid koncentrációja a mikrokapszulán belül-víz fázisban 20 tömeg% és 70 tömeg% közötti, előnyösen 25 tömeg% és 65 tömeg% közötti, még előnyösebben 35 tömeg% és 60 tömeg% közötti, a koncentráció függ a peptid fizikokémiai tulajdonságaitól, így pl. vízoldhatóságától.

A hatóanyag-felszabadulást szabályozó anyagként alkalmazott polimer lehet például tejsav/glikolsav copolymer vagy homopolimer, amelynek molekulájában savmaradék van, nehezen oldódik vagy oldhatatlan vízben és biokompatibilis. A tejsav és glikolsav aránya az elnyújtott hatóanyag-leadáshoz szükséges időtől függ, általában 100/0 és 80/20 közötti, előnyösen 100/0 és 90/10 közötti, még előnyösebben 100/0.

Tejsavként L-, D- és DL-tejsavat alkalmazhatunk, különösen előnyösen alkalmazhatók a DL-tejsav monomerjének vagy oligomerjének polimerizációjával előállított homopolimerek vagy kopolimerek.

DL-tejsav/glikolsav kopolímerként vagy homopolímerként előnyösen olyan polimereket alkalmazunk, amelyek lényegében véve nem tartalmaznak katalizátort, mivel katalizátor nélküli polimerizációval készülnek (v. ö. US-4 677 191 számú szabadalmi leírás). Előnyösek az olyan polimerek, amelyeknek diszperziós foka (tömeg/átlagos molekulatömeg és szám/átlagos molekulatömeg aránya) 1,5 és 3,0 közötti, különösen 1,5 és 2,5 közötti.

A találmány szerinti mikrokapszulák folyamatos, elnyújtott hatóanyag-leadásának időtartama nagymértekben függ a polimer molekulatömegétől és a tejsav/glikolsav kompozícióarányától. Abban az esetben például, ha olyan mikrokapszulákat állítunk elő, ame-

lyek legalább három hónapon keresztül folyamatos zéró-rendű hatóanyagleadást biztosítanak, ha a tejsav/glikolsav kompozíció-aránya 100/0, akkor a polimer átlag molekulatömege 7000 és 25 000 közötti; ha 90/0, akkor 7000 és 30 000 közötti és ha 80/20, akkor 12 000 és 30 000 közötti.

A találmányi leírásban a tömeg-átlagos molekulatömeg és a diszperziófok olyan értékeket jelentenek, amelyeket gélpermeációs kromatografiával határozunk meg, kereskedelmi forgalomban kapható, standard molekulaeloszlású polisztirol alkalmazva.

A mikrokapszulák előállításakor a polimer koncentrációja az olaj-fázisban mintegy 0,5 és 90 tömeg% közötti, előnyösen 2 és 60 tömeg% (tömeg/tömeg) közötti.

A fentebb említett poliment tartalmazó oldat (olaj-fázis) a polimer valamely szerves oldószerrel készült oldata.

Az említett szerves oldószer lehet bármely olyan szerves oldószer, amelynek forráspontja mintegy 120 °C-nál nem több, és alig elegyedik vízzel. Ilyen oldóserek például a halogénezett alkánok (pl. diklorometán, kloroform, klór-etán, triklór-etán, szén-tetraklorid stb.), az etil-acetát, az etil-éter, a benzol, a toluol stb. Ezek közül kettőnek vagy többnek az elegye is alkalmazható.

A találmány szerinti eljárással a kisebb kezdeti kibocsátást mutató kívánt mikrokapszulákat anélkül készíthetjük, hogy valamely gyógyszer-visszatartó anyagot adnánk hozzá, de azért az említett visszatartó anyaggal ki lehet egészíteni készítményünket, ha a helyzet úgy kívánja. A fentebb említett gyógyszer-visszatartó anyag olyan vegyület, amely a belső vizes fázis viszkozitását megnöveli vagy megszilárdítja azt hőmérséklet hatására valamely ion vagy olyan anyag hozzáadásával, amelynek protontöltséssel bíró bázisos csoportja van, és ez – kölcsönhatásba lépve a polimerrel – megnöveli a víz/olaj emulzió viszkozitását.

Ilyen gyógyszer-visszatartó anyagok például a zselatin, az agar, az alginsav, a polivinil-alkohol vagy valamely bázisos aminosav, pl. arginin, lizin stb., bázisos aminosavat tartalmazó polipeptid, valamely szerves bázis, pl. N-metil-glukamin, továbbá valamely természetes vagy szintetikus bázisos polimer.

Ezeket a vegyületeket használhatjuk önmagukban vagy közülük kettőnek vagy többnek keverékeként. Bár ezeknek az alkalmazandó anyagoknak a mennyisége fajtájuktól függ, előnyös, ha koncentrációjuk a belső vizes fázisban 0,05 és 90 tömeg% közötti, előnyösen 0,1 és 80 tömeg% közötti.

A mikrokapszulák kibocsátóképességének szabályozására több hagyományos eljárás ismeretes, amelyek közül meg kell említenünk a hidrolízis sebességének változtatását [Biomaterials, 5, 237–240 (1984)], továbbá egy vízoldható anyag beépítését a mikrokapszulák mátrixába, vizes csatornák kialakítása céljából a gyógyszer kibocsátására. Az első eljárás azonban a hosszú idejű kibocsátás lerövidítése irányába hat, míg a második eljárás egy kezdeti lökésszerű kibocsátást eredményez, így pedig a mintegy zéró-rendű kibocsá-

tás aligha remélhető [Chem. Pharm. Bull. 36, (4). 1502-1507 (1988)]. A második eljárásnál ezenkívül nemkívánatos mellékhatások megjelenésétől is félni lehet, amelyek annak eredményeként alakulhatnak ki, hogy a kezdeti stádiumban a gyógyszer szintje a vérben nagyon megemelkedik. Ismeretes egy másik eljárás is (US-4 767 628 számú szabadalmi leírás), amelyben a PLGA tejsav/glikolsav polimerizációs arányát úgy választják meg, hogy a kibocsátás felfüggesztések időtartama javuljon. Ez az eljárást azonban arra irányul, hogy növekedjék a polimer elbomlásának sebessége, ami természetesen megrövidítíti a kibocsátás elnyújtatlóságának időtartamát, így a hosszú időtartamon át történő folyamatos kibocsátás realizálásának korlátai vannak.

A találnány értelmében az elnyújtott hatóanyag-adású mikrokapszulákat pl. az alábbi eljárással állítjuk elő.

Először egy fiziológiaileg aktív polipeptid olyan mennyiséget adjuk vízhez, amely a fentebb említett koncentrációterékekhez szükséges, majd ehhez az oldathoz, ha szükséges, hozzáadunk valamely gyógyszer-visszatartó vegyületet, pl. a korábban említett zselatint vagy bázisos aminosavat olyan mennyiségben, hogy az oldatban vagy a szuszpenzióban a korábban említett koncentrációt elérjük. Így állítjuk elő a belső vizes fázist.

Ehhez a belső vizes fázishoz adhatunk valamely pH-beállító szert, a fiziológiaileg aktív peptid stabilitásának vagy oldhatóságának fenntartására, ilyen szer lehet pl. szénsav, ecetsav, oxálsav, citromsav, foszforsav, sósav, nátrium-hidroxid, arginin, lizin vagy ezek sói. Adhatunk hozzá továbbá valamilyen, a fiziológiaileg aktív peptidet stabilizáló szert, pl. albumint, zselatint, citromsavat, nátrium-etilén-diamin-tetraacetátot, dextrint, nátrium-hidrogén-szulfitot vagy valamely poliol-vegyületet, pl. pólileiénglikolt, és adhatunk hozzá még konzerválószereket, elsősorban hagyományos alkalmazott konzerválószereket, pl. parahidroxi-benzoesav-észtereket (pl. metil-paraben, propil-paraben), benzil-alkoholt, klór-butanolt vagy tiomerizált.

Az így kapott belső vizes fázist egy polimet tartalmazó oldathoz (olajos fázis) adjuk, ezt pedig az emulzióképzési munkafolyamat követi, amelynek eredménye a víz/olaj típusú emulzió.

Az említett emulzióképzési munkafolyamathoz valamely, a diszpergálás kivitelezéséhez általában ismert eljárást alkalmazunk. Ezek közül az eljárásközkül megemlíjtük az időszakonkénti rázásos eljárást, a keverőberendezést, pl. propellerkeverő berendezést vagy turbinakeverő berendezést vagy hasonlókat alkalmazó eljárást, a kolloidmalmos eljárást, a homogenizátoros eljárást és az ultrahangos eljárást.

Az így elkészített víz/olaj emulziót azután mikrokapsulázási eljárásnak vetjük alá. Mikrokapsulázás eszközeinként a „vízben száritásos” vagy fáziselkülönítéses eljárást alkalmazható. A vízben száritásos eljárást esetében az említett víz/olaj emulziót egy harmadik vizes fázishoz adjuk, így víz/olaj/víz terner emulziót

kapunk, majd az olajos fázisban levő oldószert lepárolva mikrokapszulákat kapunk.

A külső vizes fázishoz lehet adni valamely emulgeálószert. Emulgeálószerként bármely olyan szer alkalmazhatunk, amely stabil olaj/víz emulzió kialakítására képes; ilyen lehet pl. valamely anionos felületaktív anyag (nátrium-oleát, nátrium-sztearát, nátrium-laurilszulfát stb.), valamely nem-ionos felületaktív anyag [pl. polioxi-etilén-szorbitán zsírsavészter (Tween 80, Tween 60, amelyek az Atlas Powder Co. termékei), a ricinusolaj polioxi-etilén származéka (HCO-60, HCO-50, amelyek a Nikko Chemicals termékei)], a polivinil-pirrolidon, a polivinil-alkohol, a karboxi-metil-cellulóz, lecitin vagy zselatin. Az ilyen emulgeálóserek 15 használhatók önmagukban vagy kombinációban. Az emulgeálószer koncentrációját célszerűen úgy választjuk meg, hogy 0,01 és 20 tömeg% közötti, előnyösen 0,05 és 10 tömeg% közötti legyen.

Az olajos fázisból az oldószer elpárolgatására 20 bármely általánosan használt eljárást alkalmazhatunk. Az eljárást végrehajthatjuk pl. olyan módon, hogy fokozatosan csökkenjük a nyomást, miközben propelleres vagy mágneses keverővel kevertetünk, vagy forgó bepadlót alkalmazunk, miközben a vákuum mértékét változtatjuk. Ebben az esetben a szükséges idő csökkenhető olyan módon, hogy a víz/olaj/víz emulziót fokozatosan melegítjük, miután a polimer megszilárdulásának folyamata bizonyos mértékig elrehaladt; ilyen módon az oldószer eltávolítását teljesebbe tehetjük.

30 Az így előállított mikrokapszulákat centrifugálás-sal vagy szűréssel összegyűjtjük, desztillált vízzel többször átöblítjük, hogy a mikrokapszula felületére tapadt, szabad, fiziológiaileg aktív peptidet, gyógyszer-visszatartó anyagot és emulgeálószeret eltávolít-suk, majd az így kapott mikrokapszulákat pl. desztillált vízben diszpergáljuk és fagyásztva száritásnak vetjük alá, amelynél, ha szükséges, melegítést is alkalmazunk csökkentett nyomás mellett, hogy ilyen módon teljesebb mértékben távolítsuk el a mikrokapszulákban levő nedvességet és a mikrokapszulák falában levő oldószert.

Amennyiben a mikrokapszulákat a fázisszeparálási eljárással készítjük, valamely koacerválószer kell fokozatosan hozzáadni az említett víz/olaj emulzióhoz 45 keveretés közben, hogy a polímer kicsapódjék és megszilárduljan.

Koacerválószerként bármely, oldószerttel elegyedő polímer, ásványolaj-termék vagy növényolaj-termék alkalmazható. Ilyenek például a szilikonolaj, a szezámolaj, a szójaolj, a kukoricaolaj, a gyapotmagolaj, a kókuszdíolaj, a lenmagolaj, az ásványi olajok, n-hexán, n-heptán stb. Ezek alkalmazhatók egymagukban, de alkalmazhatók két vagy több ilyen anyag keveréke-ként is.

55 Az így kapott mikrokapszulákat szűréssel össze- gyűjtjük és mossuk, pl. heptánnal, szükség esetén is-mételten is, hogy eltávolítsuk a polímer esetleges oldó-szermaradványait. A szabad gyógyszer eltávolítását és az oldószer elkülönítését hasonlóképpen végezzük, mint a „vízben száritásos” eljárásnál. A mikrokapszu-

lák aggregálódásának megakadályozására a mosás során valamely aggregálódást gátló szert adagolhatunk.

A találmány szerinti „vízben száritásos” eljárással előállított, elnyújtott hatóanyagleadásra tervezett mikrokapszulák hosszú időn át stabilan biztosítják az elnyújtott hatóanyag-kibocsátást.

A találmány szerinti eljárással előállított mikrokapszulák adagolhatók injekciók, implantátumok és olyan szerek formájában, amelyek a végbél vagy méh nyálkahártyáján kereszti abszorbeálódnak.

A fenti módon kapott mikrokapszulákat – ha szükséges, gyengéd morzsolgatás után – szitáljuk, hogy eltüntessük a fölöslegesen nagy mikrokapszulákat. A mikrokapszulák átlagos szemcsemérete a mintegy 0,5 és 1000 µm közti tartományban, kívánatosan és előnyösen a mintegy 2 és 500 µm közti tartományban van. Amikor a mikrokapszulákat injekcióként használjuk szuszpenzió formájában, szemcseméretként azt tekintjük mérvadónak, hogy kielégítse a diszpergálhatóság és az injektálhatóság követelményeit; ez kívánatosan a mintegy 2 és 100 µm közti tartományban van.

A találmány szerinti eljárással készített mikrokapszuláknak több előnye van. Így pl. ezek szinte alig aggregálódnak vagy tapadnak egymáshoz a gyártási folyamat során. Olyan mikrokapszulákat kaphatunk, amelyek kielégítően gömb alakúak és optimális méretűek. Az oldószer eltávolításának lépését az olajos fázisból könnyű szabályozni, ezáltal szabályozni tudjuk a mikrokapszulák felületi szerkezetét, amely döntő tényező a gyógyszerkibocsátás sebessége szempontjából.

A találmány szerinti eljárással előállított mikrokapszulákat könnyű beadni injekcióként és implantátumként intramuszkulárisan, szubkután, intravénásan, vagy valamely szervebe, fületi üregbe, vagy szervi rendellenességre, pl. tumorba. Ezek különböző adagolási formákban adhatók be, így ezek alapanyagaként alkalmazhatók.

Így pl. ha a találmány szerinti eljárással előállított mikrokapszulákat injekciójával kívánjuk alakítani, a mikrokapszulákat egy diszpergálószerrel (pl. Tween 80, HCO-60, karboxi-metil-cellulóz, nátrium-alginát stb.), egy konzerválószerttel (pl. metil-paraben, propil-paraben stb.) egy izotonizálószerrel (pl. nátrium-klorid, mannit, szorbit, glükóz stb.) együtt vizes közegben diszpergáljuk, vagy vizes közegben növényi olajjal, pl. szézámolajjal vagy kukoricaelajjal együtt szuszpendáljuk. Az ilyen diszperziókat vagy szuszpenziókat azután gyakorlatban felhasználható, elnyújtott hatóanyagleadású injekciókká alakítjuk.

A fenti mikrokapszulázzal, elnyújtott hatóanyagleadású injekciókat stabilabb, elnyújtott hatóanyagleadású injekciókká alakíthatjuk további adalékanyag (pl. mannit, szorbit, laktóz, glükóz stb.) hozzáadásával, a képződött keverék újra diszpergálásával, és fagyaszta száritásával vagy porlasztva száritásával, majd szükség szerint injekció minőségű víz és/vagy megfelelő diszpergálószer hozzáadásával.

A találmány szerinti eljárással előállított elnyújtott hatóanyagleadású készítmény dózisa függ a hatóanyagként alkalmazott fiziológiaiag aktív peptid faj-

tájáról és mennyiségtől, az adagolási formától, a gyógyszer-kibocsátás tervezett időtartamától, a befordító állattól (pl. melegvérű állat, mint pl. egér, patkány, nyúl, juh, szarvasmarha, ló) vagy embertől, és a

5 beadás céljától, de mindenkorban az említett hatóanyag hatékony tartományában kell lennie. Így pl. az említett állatoknál és emberrel a mikrokapszulák egyedi dózisát úgy kell megválasztani, hogy a testtömeg kg-ra számítva mintegy 0,1 mg és 100 mg közötti tartományban, előnyösen mintegy 0,2 mg és 50 mg közötti tartományban legyen.

Ezen a módon mikrokapszula formájában készült gyógyászati kompozícióhoz jutunk, amely hatékony mennyiségű fiziológiaiag aktív peptidet tartalmaz, 15 ahol ez a mennyiség nagyobb, mint a szokásos egyedi dózis, valamint egy biológiaiag kompatibilis polimert tartalmaz. Ez a kompozíció képes arra, hogy hosszú időtartamon át folyamatosan bocsássa ki a gyógyszert.

20 A találmány szerinti eljárással előállított elnyújtott hatóanyagleadású készítménynek többek között az alábbi jellemzői vannak.

(1) Különböző adagolási formákban elérhető a fiziológiaiag aktív peptid folyamatos, elnyújtott hatóanyag-leadása. Elsősorban akkor, amikor injekcióval hosszantartó kezelés szükséges, a kívánt gyógyászati hatást a készítmény egyetlen, három havonként vagy hat havonként adagolt injekciójával stabilan elérhetjük a naponta beadás helyett. A találmány szerinti eljárással előállított készítmény tehát hosszabb elnyújtott hatóanyagleadású, mint a hagyományos, elnyújtott hatóanyagleadású készítmények.

(2) Amikor olyan készítményt adunk be injekció formájában, amely biológiaiag elbontható polimert tartalmaz, pl. sebészeti beavatkozásnál, nem szükséges implantátumot alkalmazni, hanem a készítmény könyoven beadható szubkután, intramuszkulárisan vagy a szervbe vagy a rendellenesség helyére éppen olyan módon, mint más szuszpenziós injekciók. Így nincs szükség arra, hogy a gyógyszerkibocsátás teljessé válása után a mátrixot kioperáljuk a testből.

Az alábbi referenciapélda és a kiviteli példák részletesen ismertetik a találmányt.

#### 45 Referenciapélda

Hőmérővel, visszafolyató hűtővel és nitrogén-bevezetővel ellátott négynyakú lombikba bemérjük 160 g DL-tejsav 85 térf%-os vizes oldatát. Az oldatot csökkentett nyomáson 6 órán át nitrogénáramban melegítjük olyan belső nyomás- és hőmérséklet-tartományban, amely 105 °C, illetve 46 200 Pa és 150 °C, illetve 3960 Pa között van. A reakciót 90 órán át hagyjuk végrehenni 175 °C hőmérsékleten 396–600 Pa közötti csökkentett nyomáson, majd a reakciókeveréket

50 szobahőmérsékletre hűtjük, így 98 g lényegében színtelen, szilárd polimert kapunk. Ezt a polimert tetrahidrofuránban feloldjuk, és meghatározzuk az átlagos molekulatömeget, valamint a diszperziósokat gélpermeációs kromatográfiával, összehasonlító anyagként kereskedelmi forgalomban kapható standard molekulatöme-

55 60

gű polisztirol alkalmazva. A kapott adatok: 17 200, illetve 1,89.

### 1. példa

400 mg TAP-144-et feloldunk 0,5 ml desztillált vízben, ez képezi a vizes fázist. A vizes oldatot 4 g poli-DL-tejsav 7,5 ml diklór-metánnal képzett oldatához adjuk [az alkalmazott poli-DL-tejsav: 87 018 sz. téTEL esetén 18 000 átlagos molekula-tömeg (244., 245. mikrokapszula-tételek) és 880 622 sz. téTEL esetén 18 200 átlagos molekulatömeg, az eloszlás mértéke 1,76 (248. mikrokapszula-téTEL)]. A keveréket kisméretű homogenizátorban [Politron, a Kinematika (Svájc) gyártmánya] kevertetjük, mintegy 60 másodpercen át, így víz/olaj emulziót kapunk. Ezt az emulziót 15 °C hőmérsékletre lehűtjük, majd 1000 ml, előzőleg 15 °C hőmérsékletre lehűtött vizes oldatba öntjük, amely 0,25 tÉRF% polivinil-alkoholt (PVA) tartalmaz, ezt a keveréket kisméretű homogenizálót alkalmazva kevertetjük, így víz/olaj/víz emulziót kapunk. Ezután a diklór-metánt a víz/olaj/víz emulzió kevertetése közben lepároljuk, ezáltal megszilárdítva a belső víz/olaj emulziót. Az így megszilárdult anyagot azután centrifugálással összegyűjtjük.

Az anyagot desztillált vízben ismét diszpergáljuk, majd centrifugáljuk, ilyen módon kimossuk a gyógy-szert a diszpergált anyagból.

Az ilyen módon összegyűjtött mikrokapszulákat fagyaszta szárításnak vetjük alá, hogy eltávolítsuk az oldószert és a vízmentesítést teljessé tegyük. Ilyen módon porszerű terméket kapunk. A mikrokapszulákban (244., 245., 248. tételek) megkötendő gyógyszertartalom 9%-nak van előírva, és a bezárási arány 100% vagy több.

Ezeket a mikrokapszulákat patkányoknak ( $n = 5$ ) adjuk be szubkután, majd az injekció helyén a mikrokapszulákban maradó TAP-144-et kvantitatívan meghatározzuk, hogy meg tudjuk mérti a gyógyszer in vivo kibocsátási sebességét. Az eredményeket az 1. táblázat mutatja be.

**1. TÁBLÁZAT**  
*In vivo kibocsátási sebesség*

	A szubkután megmaradó gyógyszer mennyisége (%)				
	1. nap	2. hét	4. hét	8. hét	14. hét
244	102,2	89,0	70,2	44,0	9,5
245	105,9	82,4	69,4	52,1	9,8
248	104,1	75,4	72,8	43,7	11,6

Ezek a mikrokapszulák nem mutatnak robbanásszerű kibocsátást a kiindulási stádiumban, és a TAP-144 folyamatos kibocsátása figyelhető meg 14 héten, vagyis 3 hónapnál hosszabb időn át, lényegében igen jó reprodukálhatósággal.

### 2. példa

Hasonlóképpen 400 mg TAP-144-EL feloldunk 0,5 ml desztillált vízben; ez képezi a vizes fázist. 4 g politejsav-glikolsav (90/10) feloldásával készült [870 320 sz.

átlagos molekulatömegű poli-DL-tejsavat (870 304 sz. téTEL (312. mikrokapszula téTEL)) feloldunk 5 ml diklór-metánban. Így alakítjuk ki az olajos fázist. A vizes fázist és az olajos fázist összeöntjük ugyanúgy, ahol-yan fentebb leírtuk, így alakítjuk ki a víz/olaj emulziót.

Ezt az emulziót 13 °C hőmérsékletre lehűtjük, majd 1000 ml, 0,25% polivinil-alkohol (PVA) tartalmú vizes oldatba öntjük. Ez a keveréket ugyanolyan módon dolgozzuk fel, amint fentebb leírtuk, ilyen módon víz/olaj/víz emulziót kapunk, amelyet mikrokapszulák dolgozunk fel.

Ezenkívül 550 mg TAP-144-EL oldunk fel 1 ml desztillált vízben. Egyidejűleg külön-külön 4-4 g kü-

15 lönböző poli-DL-tejsavat [890 717 sz. téTEL: molekulatömeg 14 100, eloszlás 2,00 (402. mikrokapszula téTEL): 890 720 sz. téTEL: molekulatömeg 17 200, eloszlás 1,89 (405 mikrokapszula téTEL): 890 721 sz. téTEL molekulatömeg 17 500, eloszlás 1,87 (406. mikrokapszula téTEL)] feloldunk 7,5-7,5 ml diklór-metánban. A fenti vizes oldatokat egyenként hozzáadjuk a diklór-metánnos oldatokhoz, majd ezeket a keverékeket ugyanolyan módon dolgozzuk fel, mint korábban. Ilyen módon háromféle víz/olaj emulzió mintát kapunk. A három minta egyes emulziót 1000-1000 ml, 0,25% polivinil-alkoholt tartalmazó vizes oldatba öntjük, ahol ez a vizes oldat 15 °C hőmérsékletre (első minta), illetve 18 °C hőmérsékletre (második és harmadik minta) volt lehűtve. A mikrokapszulák kinyerésére vonatkozó

30 munkamenet ezután azonos azzal, amelyet az 1. példában leírtunk. A bezárási arány 101%, 113%, illetve 103%.

A 2. táblázat a gyógyszer in vivo kibocsátási sebességeit mutatja be a megfelelő mikrokapszulákban. A 35 mérést ugyanúgy végezzük, amint korábban leírtuk.

### 2. TÁBLÁZAT

	TéTEL	n	A szubkután megmaradó gyógyszer mennyisége (%)					
			1. nap	1. hét	2. hét	8. hét	12. hét	14. hét
312	5	86,3	82,2	41,2	9,8	-	-	-
402	3	98,0	78,2	64,9	38,4	20,0	-	-
405	5	88,8	79,4	52,2	33,8	-	21,3	-
406	5	85,5	86,2	56,7	38,8	-	23,1	-

A gyógyszer kibocsátása, kis mennyiségi kezdeti 50 kibocsátás után, hosszú, folyamatos kibocsátást mutat két hónapnál hosszabb időn át. A kibocsátás időtartama függ az alkalmazott nagy molekulatömegű polimer hidrolízisbemutatásától.

### 3. példa

Ugyanolyan módon készítünk mikrokapszulákat, mint az 1. példában, egy olyan vizes fázisból, amely 400 mg TAP-144 feloldásával készült 0,5 ml desztillált vízben, és egy olyan olajos fázisból, amely 4 g politejsav-glikolsav (90/10) feloldásával készült [870 320 sz.

tétel: átlagos molekulatömeg 19000 (315. mikrokapszula tétel); 891 020 sz. tétel: átlagos molekulatömeg 13 800 (410. mikrokapszula tétel)]. A 410. mikrokapszula tétel esetében a vizes fázist úgy állítjuk elő, hogy 550 mg TAP-144-öt feloldunk 1 ml desztillált vízben, és ezt használjuk belső vizes fázisként, és a víz/olaj emulzió és a külső fázis hőmérsékletét 15 °C, illetve 18 °C hőmérsékletre állítjuk be. A gyógyszer bezárási aránya ezekben a mikrokapszulákban 106, illetve 100%.

Ezeket a mikrokapszulákat patkányoknak adjuk be szubkután ugyanolyan módon, ahogyan fentebb leírtuk, és a gyógyszer in vivo kibocsátási sebességeit értékeljük. A 3. táblázat bemutatja, hogy olyan elnyújtott hatóanyagleadású mikrokapszulákat kapunk, amelyek folyamatosan, hosszú időn, több, mint két hónapon át, bocsátanak ki hatóanyagot.

### 3. TÁBLÁZAT

*In vivo kibocsátási sebesség (n = 5)*

Tétel	A szubkután megmaradó gyógyszer mennyisége (%)						
	1. nap	1. hét	2. hét	4. hét	6. hét	8. hét	10. hét
315	77,4	76,0	59,2	51,6	41,1	25,8	-
410	93,5	88,3	64,1	52,5	33,1	32,7	15,4

#### 4. példa

Ugyanolyan módon készítünk mikrokapszulákat, mint az 1. példában egy olyan vizes fázisból, amely 280 mg TRH (szabad forma) feloldásával készült 0,25 ml desztillált vízben, és egy olyan olajos fázisból, amely a 2. példában alkalmazott poli-DL-tejsav (átlagos molekulatömeg 17 200, eloszlás 1,89) 6 ml diklorometában történő feloldásával készült; a víz/olaj emulzió hőmérséklete és a belső vizes fázis hőmérséklete 15 °C-ra van beállítva. A gyógyszer bezárási aránya az így kapott mikrokapszulákban (R103 mikrokapszula tétel) olyan hosszan tartó, hogy meghaladhatja a 3 hónapot is.

A 4. táblázat bemutatja, hogy olyan elnyújtott hatóanyagleadású mikrokapszulákat kapunk, amelyek folyamatosan, hosszú időn, mintegy három hónapon át, bocsátanak ki hatóanyagot.

### 4. TÁBLÁZAT

Tétel	A szubkután megmaradó gyógyszer mennyisége (%)				
	1. nap	2. hét	4. hét	8. hét	12. hét
R103	98,3	80,0	6,8	30,6	6,7

### SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Fiziológiailag aktív polipeptid legalább két hónapon át tartó zéró-rendű kibocsátásra alkalmas mikro-

kapszulák, *azzal jellemző*, hogy előállításukhoz víz-az-olajban emulziót készítünk, amely egy lényegében 20–70 tömeg% polipeptidet tartalmazó belső vizes fázisból és egy 7000–30 000 átlagos molekulatömegű kopolimert vagy homopolimet – ahol a kopolimerben vagy homopolimerben a tejsav/glikolsav molaránya 80/20 és 100/0 közötti – tartalmazó olajos fázisból áll, majd ezt a víz-az-olajban emulziót mikrokapszulákká alakítjuk.

10 2. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett víz-az-olajban emulziót egy vizes fázisban diszpergáljuk, és az így létrejövő víz/olaj/víz ternér emulziót vízben száritásos eljárásnak vetjük alá.

15 3. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett polipeptid két vagy több aminosavgyökből áll és molekulatömege a lényegében 200 és 100 000 közti tartományban van.

4. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett polipeptid luteinizáló hormont kibocsátó hormon (LH-RH) vagy az LH-RH analóg vegyülete, amely vízoldható és molekulatömege 1000 vagy több.

25 5. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett polipeptid (pir) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-ProNH<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (TAP-144).

6. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett polipeptid tirotropin-kibocsátó hormon (TRH).

30 7. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy a tejsav/glikolsav molaránya 90/10 és 100/0 között van.

8. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett homopolimer 7000 és 35 000 átlagos molekulatömegű polipeptid.

35 9. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett belső vizes fázis 25–65 tömeg% polipeptidet tartalmaz.

10. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett belső vizes fázis 35–60 tömeg% polipeptidet tartalmaz.

11. Az 1. igénypont szerinti mikrokapszulák, *azzal jellemző*, hogy az említett belső vizes fázist gyógyszer-visszatartó anyag hozzáadása nélkül készítjük el.

45 12. Eljárás mikrokapszulák előállítására, amelyek fiziológiailag aktív polipeptid legalább két hónapon át tartó zéró-rendű kibocsátásra alkalmasak, *azzal jellemző*, hogy víz-az-olajban emulziót készítünk, amely egy mintegy 20–70 tömeg% polipeptidet tartalmazó belső vizes fázisból és egy 7000–30 000 átlagos molekulatömegű kopolimert vagy homopolimet – ahol a polimerben a tejsav/glikolsav molaránya 80/20 és 100/0 közötti – tartalmazó olajos fázisból áll, majd ezt a víz-az-olajban emulziót vízben száritásos vagy fázis-elkülönítéses eljárással mikrokapszulákká alakítjuk.

55 13. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemző*, hogy a mikrokapszulákká alakítást az említett víz-az-olajban emulzió vizes fázisban történő diszpergálásával, majd az így létrejött víz/olaj/víz ternér emulziót vízben száritásos eljárással végezzük.

14. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy a víz-az-olajban emulziót olyan vizes fázisban diszpergáljuk, amely emulgeálószerként polivinil-alkoholt tartalmaz.

15. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy polipeptidként olyan polipeptidet alkalmazunk, amely két vagy több aminosavgyökből áll, és molekulatömege lényegében 200 és 100 000 közti.

16. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy polipeptidként luteinizáló hormont kibocsátó hormont (LH-RH) vagy LH-RH olyan analóg vegyületet alkalmazzuk, amely vízoldható és molekulatömege 1000 vagy több.

17. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy polipeptidként (pir) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-ProNHC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (TAP-144) képletű peptidet alkalmazunk.

18. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy polipeptidként tireotropint kibocsátó hormont (TRH) alkalmazunk.

19. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy polimerként 90/10 és 100/0 közötti molarányú tejsav/glikolsav polimert alkalmazunk.

5 20. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy homopolimerként 7000 és 25 000 átlagos molekulatömegű poli-tejsavat alkalmazunk.

21. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy belső vizes fázisként 25–65 tömeg% polipeptidet tartalmazó fázist alakítunk ki.

10 22. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy belső vizes fázisként 35–60 tömeg% polipeptidet tartalmazó fázist alakítunk ki.

23. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemzve*, hogy az említett belső vizes fázist gyógyszer-visszatartó 15 anyag hozzáadása nélkül készítjük el.

24. Mikrokapszula lényegében véve ahogyan itt ismertetük hivatkozással a példák bármelyikére.

25. Eljárás mikrokapszula előállítására, lényegében véve ahogyan itt ismertetük hivatkozással az 1–4. példa bármelyikére.